N° 44

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

**FACULTÉ DE MÉDECINE**

# RECHERCHE CLINIQUE

DU

# SANG DANS L'URINE

PAR UNE

NOUVELLE TECHNIQUE SENSIBLE UTILISANT LA RÉACTION
A LA PHÉNOLPHTALINE

(Travail du laboratoire des cliniques de l'Hôpital Saint-Eloi-Suburbain.)

# THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE MONTPELLIER

**LE 18 AVRIL 1910**

PAR

LAURENT SARDOU

Né à Marseille, le 26 octobre 1872

PHARMACIEN DE 1re CLASSE

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**EXAMINATEURS DE LA THÈSE**

CARRIEU, Professeur, *Président.*
VILLE, Professeur
JEANBRAU, Agrégé
DERRIEN, Agrégé
*Assesseurs.*

MONTPELLIER

IMPRIMERIE DE LA MANUFACTURE DE LA CHARITÉ

1910

# RECHERCHE CLINIQUE

DU

# SANG DANS L'URINE

PAR UNE

NOUVELLE TECHNIQUE SENSIBLE UTILISANT LA RÉACTION
A LA PHÉNOLPHTALINE

N° 44

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

FACULTÉ DE MÉDECINE

# RECHERCHE CLINIQUE

DU

# SANG DANS L'URINE

PAR UNE

NOUVELLE TECHNIQUE SENSIBLE UTILISANT LA RÉACTION A LA PHÉNOLPHTALINE

(Travail du laboratoire des cliniques de l'Hôpital Saint-Eloi-Suburbain.)

# THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE MONTPELLIER

LE 18 AVRIL 1910

PAR

LAURENT SARDOU

Né à Marseille, le 26 octobre 1872

PHARMACIEN DE 1re CLASSE

ACAD. LUCO-BAP. BIBL.

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

CARRIEU, Professeur, *Président.*
VILLE, Professeur
JEANBRAU, Agrégé
DERRIEN, Agrégé
*Assesseurs.*

MONTPELLIER

IMPRIMERIE DE LA MANUFACTURE DE LA CHARITÉ

1910

# PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. MAIRET (✲)..... DOYEN.
SARDA..... ASSESSEUR
IZARD..... SECRÉTAIRE.

## PROFESSEURS

| | |
|---|---|
| Clinique médicale..... | MM. GRASSET (✲). Chargé de l'enseignement de pathol. et thérap. génér. |
| Clinique chirurgicale..... | TEDENAT (✲). |
| Thérapeutique et Matière médicale..... | HAMELIN (✲). |
| Clinique médicale..... | CARRIEU. |
| Clinique des maladies mentales et nerveuses.. | MAIRET (✲). |
| Physique médicale..... | IMBERT. |
| Botanique et Histoire naturelle médicales..... | GRANEL. |
| Clinique chirurgicale..... | FORGUE (✲). |
| Clinique ophtalmologique..... | TRUC (✲). |
| Chimie médicale..... | VILLE. |
| Physiologie..... | HEDON. |
| Histologie..... | VIALLETON. |
| Pathologie interne..... | DUCAMP. |
| Anatomie..... | GILIS (✲). |
| Clinique chirurgicale infantile et orthopédie... | ESTOR. |
| Microbiologie..... | RODET. |
| Médecine légale et Toxicologie..... | SARDA. |
| Clinique des maladies des enfants..... | BAUMEL. |
| Anatomie pathologique..... | BOSC. |
| Hygiène..... | H. BERTIN-SANS. |
| Pathologie et thérapeutique générales..... | RAUZIER. Chargé de l'enseignement de la clinique médicale. |
| Clinique obstétricale..... | VALLOIS. |

*Professeurs adjoints :* M. DE ROUVILLE, PUECH, MOURET.
*Doyen honoraire :* M. VIALLETON.
*Professeurs honoraires :* M. E. BERTIN-SANS (✲), GRYNFELTT.
*Secrétaire honoraire* : M. GOT.

## CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

| | |
|---|---|
| Clinique ann. des mal. syphil. et cutan.. | MM. VEDEL, agrégé. |
| Clinique annexe des mal. des vieillards. | VIRES, agrégé. |
| Pathologie externe..... | LAPEYRE, agrégé libre. |
| Clinique gynécologique..... | DE ROUVILLE, prof. adj. |
| Accouchements..... | PUECH, prof. adj. |
| Clinique des maladies des voies urinaires | JEANBRAU, agrégé. |
| Clinique d'oto-rhino-laryngologie..... | MOURET, prof. adj. |
| Médecine opératoire..... | SOUBEYRAN, agrégé. |

## AGRÉGÉS EN EXERCICE

| | | |
|---|---|---|
| MM. GALAVIELLE. | MM. SOUBEYRAN. | MM. LEENHARDT. |
| VIRES. | GUERIN. | GAUSSEL. |
| VEDEL. | GAGNIERE. | RICHE. |
| JEANBRAU. | GRYNFELTT ED. | CABANNES. |
| POUJOL. | LAGRIFFOUL. | DERRIEN. |

## EXAMINATEURS DE LA THÈSE

| | |
|---|---|
| MM. CARRIEU, *président.* | MM. JEANBRAU, *agrégé.* |
| VILLE, *professeur.* | DERRIEN, *agrégé.* |

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur; qu'elle n'entend leur donner n approbation, ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

*Pieux hommage de reconnaissance*
*et d'affection filiale.*

A MA MÈRE

A MA FEMME

A MON FILS

A MES SŒURS

A TOUS MES PARENTS ET AMIS

L. SARDOU.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CARRIEU

PROFESSEUR DE CLINIQUE MÉDICALE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

L. SARDOU.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. VILLE

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE MONTPELLIER

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ
EMILE JEANBRAU

CHEF DU SERVICE DES MALADIES DES VOIES URINAIRES

A MONSIEUR LE DOCTEUR E. DERRIEN

PROFESSEUR AGRÈGÉ DE CHIMIE MÉDICALE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE MONTPELLIER

L. SARDOU.

# TABLE DES MATIÈRES

Page.

AVANT-PROPOS ..... 11

PREMIÈRE PARTIE. — **Introduction.**

1° Réactions colorées pour la recherche du sang ..... 14

2° Mécanisme de ces réactions ..... 15

DEUXIÈME PARTIE. — **Réaction à la phénolphtaline.**

I. *Historique.* — Le réactif, sa formule, détails sur sa préparation, sa conservation et son emploi ..... 19

II. *Recherches personnelles* ..... 22

1° Exposé d'une technique nouvelle ..... 23

2° Sensibilité de notre technique ..... 26

TROISIÈME PARTIE. — **Intérêt clinique** ..... 31

CONCLUSIONS ..... 35

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE ..... 36

# AVANT-PROPOS

Ce n'est pas la tradition qui nous dicte ces lignes !

Que tous nos maîtres veuillent bien agréer les remerciements que nous tenons à leur adresser publiquement pour le bon enseignement que nous avons reçu d'eux. Nous en conserverons un respectueux et sympathique souvenir.

Nous sommes infiniment sensible à l'honneur que nous a fait M. le professeur Carrieu, en voulant bien accepter la présidence de notre thèse.

Nous adresserons également nos remerciements à Messieurs les professeurs Ville, Jeanbrau et Derrien, qui ont bien voulu faire partie de notre jury.

Le sujet de notre thèse nous a été indiqué par M. le professeur Derrien.

Nous avons contracté envers lui une dette toute particulière de reconnaissance non seulement pour les conseils qu'il nous a prodigués, pendant les trois années que nous avons passées dans son laboratoire, mais encore pour l'amitié dont il a bien voulu nous honorer.

M. le professeur agrégé Gaussel a droit à toute notre gratitude pour la bonté qu'il nous a souvent témoignée.

C'est à la bienveillance de M. le professeur agrégé Lagriffoul que nous devons d'avoir pu examiner de nombreux malades et nous familiariser avec le diagnostic. Nous garderons de lui le meilleur souvenir.

Notre confrère et ami M. le pharmacien Telmon nous a fourni des renseignements précieux pour notre thèse. Nous l'en remercions bien sincèrement.

Nous n'oublierons pas nos premiers maîtres de l'Ecole de Marseille : MM. les professeurs Magon, Delanglade et Imbert.

I nous est agréable d'invoquer aussi le souvenir de deux de nos camarades avec lesquels nous avons fait nos études : M. le docteur Jacques Martin, chef de travaux à l'Ecole de Marseille et M. le docteur Paul Desperiès à Montpellier.

RECHERCHE CLINIQUE

DU

# SANG DANS L'URINE

PAR UNE

NOUVELLE TECHNIQUE SENSIBLE UTILISANT LA RÉACTION
A LA PHÉNOLPHTALINE

---

## PREMIÈRE PARTIE

### INTRODUCTION

En clinique on a souvent à rechercher le passage du sang dans l'urine qui peut se faire sous forme d'hématuries ou d'hémoglobinuries.

Dans de nombreux cas, l'aspect seul des urines permet de faire le diagnostic. Il est cependant des cas où les urines n'offrent pas cette coloration rouge-brun caractéristique et conservent leur coloration normale jaune-paille sans dépôt apparent.

Ce sont ces sortes d'hématuries dites hématuries histologiques (parce qu'elles ne sont révélées que par l'examen microscopique du culot de centrifugation) qu'il est intéressant pour le clinicien de sensibiliser par des examens faciles et précis.

Nous ne parlerons pas des recherches microscopiques ou spectroscopiques qui nécessitent des appareils coûteux

et ne peuvent être pratiqués au lit des malades. Nous ne nous occuperons que des recherches chimiques utilisant la propriété de certains corps de donner des réactions colorées.

*1° Réactions colorées.*

Ces procédés ont été utilisés d'abord pour l'identification des oxydases et appliqués ensuite à la recherche du sang dans l'urine.

Le type de ces réactifs est la teinture de gaïac utilisée dès 1864 par Van-Deen. Depuis, de nombreux autres corps ont été employés : teinture d'aloïne par Schaer-Rossel, solution de gaïacol par Bourquelot et Dupouy, benzidine par O. R. Adler, solution alcaline de phénophtaline par Kaste et Meyer.

Toutes ces réactions ne sont pas spécifiques du sang et la critique les accuse de nombreuses causes d'erreur. Ces critiques sont surtout valables pour la médecine légale. Daskaloff écrit avec raison : « Les réactions colorées dues aux propriétés peroxydasiques de la partie ferrugineuse de la matière colorante du sang *ne sont pas spécifiques* et ne peuvent avoir en médecine légale qu'une valeur négative. »

« Il faut se mettre en garde contre l'engouement dont jouit actuellement en France la réaction de Meyer (oxydation à la phénolphtaline) Cette réaction est certes très sensible et peut rendre des services en clinique, mais en médecine légale, elle a la même valeur que le bleuissement de la teinture de gaïac (nécessaire, mais pas suffisante). »

Malgré le procès qu'on a pu faire aux recherches chimiques nous leur accordons notre faveur à cause de la rapidité et de la netteté de la réaction et aussi de la facilité de la manipulation. Elles offrent encore sur le microscope l'avantage de pouvoir déceler des traces de sang dans certaines urines qui auraient hémolysé les globules rouges

*2° Mécanisme de ces réactions.*

Le principe de ces réactions est de transformer le réactif employé en un produit d'oxydation dont la présence est indiquée par une coloration particulière et propre à chaque réactif.

Ce phénomène d'oxydation peut se faire par l'action des oxydases ou des péroxydases.

Les oxydases ou ferments oxydants directs prennent directement l'oxygène à l'atmosphère et le cèdent ensuite sous forme d'oxygène actif.

Les péroxydases ou ferments oxydants indirects sont impuissants à s'oxyder en présence de l'oxygène seul de l'air, ils empruntent leur oxygène à un intermédiaire qu'ils décomposent.

Dans les recherches qui nous occupent, c'est actuellement l'eau oxygénée que l'on emploie. Elle a entièrement remplacé l'ancienne essence de térébenthine ozonisée.

Sous l'influence des péroxydases l'eau oxygénée est ainsi décomposée :

$$H^2O^2 = H^2O + O$$

L'O mis en liberté est un O actif qui devient l'agent d'oxydation.

Ces péroxydases peuvent être divisées en deux groupes : *a*) les diastasiques (pus, salive, sueur, oxydases alimentaires) que la chaleur peut détruire ; *b*) les non diastasiques que l'on peut comparer aux péroxydases artificielles de Deniges (hydrate ferrique, hydrate cuivrique, colloïdaux, etc.)

Dans ce dernier groupe nous placerons les oxydants catalytiques métallifères et en particulier l'hématine (qui doit son activité à la forme spéciale qu'y revêt le fer).

Sous l'influence des catalases (qu'il ne faut pas confondre avec les peroxydases) l'eau oxygénée est bien décomposée mais en donnant naissance à de l'O inactif sous forme moléculaire $O^2$.

$$2H^2O^2 = 2H^2O + O^2$$

Les globules rouges possèdent à la fois des propriétés catalasique et peroxydasique. La propriété catalasique est due à un ferment spécial isolé par MM. Ville et Moitessier. L'hémoglobine n'a pas d'action catalasique mais c'est à elle qu'est due la propriété peroxydasique des hématies.

L'eau oxygénée (ou l'essence de térébenthine) mise en présence du réactif est inactive. La coloration du réactif ne change pas. La réaction pour se produire a besoin d'un excitateur.

Cet excitateur peut être varié. C'est le pus, le sang parfois des excreta différents comme la salive, la sueur.

Les globules blancs possèdent un pouvoir catalytique que la chaleur peut détruire tandis que les globules rouges ont une propriété peroxydante qui n'est pas modifiée par l'ébullition (car cette propriété semble due à la façon dont est combiné le fer avec le reste de la molécule de l'hématine et l'hématine donne encore la réaction).

Weber pour éliminer les causes d'erreur dues aux corps qui autre que le sang pourraient renfermer une oxydase avait indiqué à propos de la recherche du sang par le procédé de Van-Deen de traiter le corps suspect par l'éther acétique qui dissoudrait l'hématine et de faire ensuite la recherche sur cet extrait éthéré. Cette modification de Weber peut s'appliquer aussi aux autres procédés à l'aloïne ou à la benzidine à l'exclusion cependant de celui à la phénolphtaline car l'acide acétique seul donne une réaction colorée avec ce dernier corps (R. Cestan).

Cette modification de Weber qui peut s'appliquer à l'urine n'est pas cependant d'un emploi facile au lit du malade. C'est plutôt une méthode de laboratoire qu'une recherche clinique.

Nous avons dit que le pus donnait une réaction positive dans les réactions à la teinture de gaïac ou à la benzidine. Nous aurons l'occassion d'y revenir quand nous décrirons en détail la recherche du sang par la phénolphtaline, et nous tâcherons de préciser alors le rôle qu'il peut jouer.

L'iodure de potassium, le protooxalate de fer, la rouille oxydent le gaïac et la benzidine en présence de l'eau oxygénée et sont sans action sur la phénolphtaline.

Tous ces trois réactifs sont oxydés par le fer réduit, le formol et le permanganate de potasse.

L'oxycyanure de mercure, le cyanure de mercure et l'essence de moutarde employés journellement pour la conservation des urines sont sans action sur la phénolphtaline.

L'urine normale ne renferme pas de corps oxydants capable d'augmenter la sensibilité de la réaction colorée; elle paraîtrait la diminuer.

# DEUXIÈME PARTIE

## RÉACTION A LA PHÉNOLPHTALINE

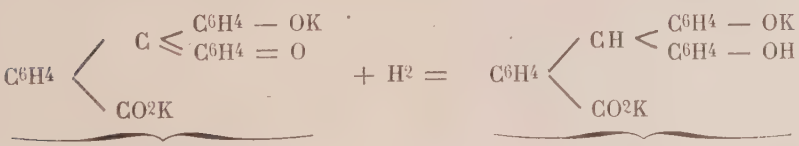
### I

### HISTORIQUE ET PRÉPARATION

Parmi les divers réactifs dont nous avons parlé, nous avons entrepris l'étude du réactif à la phénolphtaline à cause de la faveur dont il jouit actuellement auprès des urologistes. De plus il offre l'avantage de se conserver assez bien ce que ne possèdent pas les autres réactifs qui demandent à être de préparation récente.

La phénolphtaline dérive de la phénolphtaléine réduite sous l'influence de l'hydrogène à l'état naissant.

Voici la formule de cette réaction :

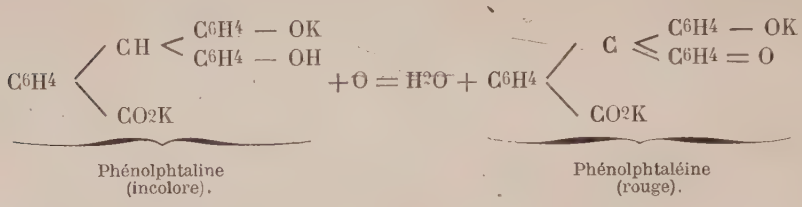



Phénolphtaléine
à l'état de sel potassique (coloré)
*(Formule quinonique généralement admise.)*

Phénolphtaline
sel potassique (incolore).

La phénolphtaléine en solution vire au rouge en présence des bases, mais une fois réduite et transformée en phénolphtaline sa solution ne donne aucune réaction colorée.

Cependant, cette phénolphtaline peut se réoxyder facilement en redonnant la phénolphtaléine dont la présence sera de nouveau signalée par la couleur rouge communiquée par les alcalis.




L'oxydabilité de la phénolphtaline a été utilisée pour la première fois par Kaste et Schedd (1901) dans leurs études sur l'identification des oxydases. Utz en a fait une étude approfondie et enfin en 1903 Meyer en a indiqué l'emploi dans la recherche du sang.

Le réactif que nous employons est celui de Meyer dont la préparation est facile à faire.

Voici sa préparation. Qu'on nous permette d'insister sur l'importance de certains détails. On porte à l'ébullition dans un ballon (et non dans une capsule à cause de la mousse qui se forme) :

2 grammes de phénolphtaléine.
20 grammes de potasse anhydre dissous dans
100 grammes d'eau distillée, et on y ajoute
10 grammes de poudre de zinc impalpable.

Le mélange est rouge au début, puis se décolore progressivement par suite de la réduction de la phénolphtaléine en phénolphtaline.

Il faut employer du zinc en poudre impalpable car s'il était grenu, même légèrement, on n'arriverait pas à réduire la phénolphtaléine même en augmentant la dose et le mélange ne se décolorerait pas. Ce réactif doit être préparé à une ébullition très modérée en agitant contiuellement le mélange qui doit être filtré chaud dès décoloration complète.

On obtient un liquide très légèrement jaunâtre qu'il faut conserver à l'abri de l'air et de toute cause d'oxydation extérieure. Il n'est pas nécessaire de laisser de la poudre de zinc au fond du flacon pour empêcher son altération ; nous recommandons seulement de conserver le réactif dans de petits flacons séparés pour éviter le contact de l'air. De plus, le réactif devra être puisé avec une pipette et non versé directement avec le flacon dans le tube à essai (ce qui cause des bavures sur le goulot du flacon où il se dessèche, s'oxyde et se recolore d'où possibilité d'erreurs).

Le procédé de recherche indiqué jusqu'à nous était le suivant :

Verser successivement dans un tube à essai 2 centimètres cubes d'urine puis 1 centimètre cube de réactif et ensuite après agitation IV à V gouttes d'eau oxygénée à 12 volumes. Si l'urine contenait du sang le liquide devait prendre une coloration rouge dont l'intensité était proportionnelle à la quantité de sang contenue dans l'urine.

La réaction serait sensible avec des dilutions de sang dans l'urine au titre de 1/10 000 d'après Triboulet, de 1/20.000 et dans quelques cas rares de 1/100.000 d'après la thèse de Puy-le-Blanc.

II

## RECHERCHES PERSONNELLES

Nous avons été frappé de n'obtenir aucune réaction positive dans la recherche du sang dans l'urine par le réactif de Meyer à la phénolphtaline avec des urines qui cependant contenaient des globules sanguins nettement constatés par le microscope après centrifugation.

Dernièrement encore avec l'urine d'un de nos camarades atteint d'hématurie d'Egypte (bilharziose), la réaction de Meyer telle que nous venons de la décrire resta négative bien qu'au microscope nous ayons vu de nombreuses hématies. C'était une urine de couleur jaune orangé foncée, de densité 1030, ayant 15 grammes par litre de chlorures (en NaCl) et 25 grammes d'urée. Certaines urines de faible densité nous ont donné des résultats positifs avec de rares globules.

L'urine renferme donc suivant son degré de concentration certains éléments qui peuvent à un moment gêner la réaction au point de l'empêcher de se produire.

En 1901, Sabrazès et Fauquet avaient signalé que dans une urine à teneur faible en chlorures les hématies étaient laquées facilement sans que la dose en urée ait une action quelconque sur ce phénomène.

Nous pensons que la réaction sera d'autant plus sensible que l'urine sera moins dense et que les hématies contenues dans l'urine se sont sédimentées plus facilement.

Pour augmenter l'hémolyse et la sensibilité de la réaction nous avons modifié la technique employée jusqu'ici.

### 1° Technique nouvelle

Nous employons (1) :

1° Le réactif de Meyer à la phénolphtaline tel que nous avons indiqué sa préparation.

2° De l'alcool acétique :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Acide acétique cristallisable | 2 | centimètres | cubes. |
| Alcool à 90°..... | 98 | — | — |

3° De l'eau oxygénée à 12 volumes.

Nous opérons de la manière suivante :

On verse dans un tube à essai 3 centimètres cubes d'urine non filtrée préalablement homogénéisée par agitation, on y ajoute un égal volume 3 centimètres cubes d'alcool acétique dont nous avons indiqué la formule.

On agite et on verse ensuite : 1 centimètre cube de réactif de Meyer, puis après nouvelle agitation III gouttes d'eau oxygénée à 12 volumes.

Si l'urine contient du sang, il doit se produire une coloration rosée plus ou moins intense suivant la quantité de sang contenu dans l'urine. Le début de la réaction se manifeste de quelques secondes à trois minutes après avoir versé l'eau oxigénée. La réaction conserve son intensité pendant très longtemps ce qui ne se produisait pas avec la méthode ordinaire.

Cette modification rend le réactif à la phénolphtaline aussi sensible que la recherche du sang par le microscope

(1) *Telmon et Sardou.* — Etude de la réaction à la phénolphtaline pour la recherche du sang dans l'urine. — Séance de la Société des Sciences médicales du 28 janvier 1910 (*Montpellier-Médical*).

et nous pouvons dire aussi que son avantage sur le microscope est que, suivant le degré de concentration moléculaire de l'urine dû principalement aux chlorures, il peut se faire que dans nombre de cas (quelquefois assez fréquents à cause du régime lacté) les globules s'hémolysant ne soient pas décelés par le microscope alors que la présence de sang est révélée par notre réaction.

Dans l'hémoglobinurie, le microscope nous serait aussi d'aucun secours.

**Remarques importantes.** — Nous tenons à faire remarquer que notre procédé ne peut s'appliquer *qu'à l'urine seule* et qu'on ne doit pas en faire usage dans les matières fécales dans lesquelles la recherche du sang réclame des techniques particulières à cause du grand nombre d'erreurs possibles provenant de l'alimentation.

« La Médecine légale, ainsi que le dit Cestan (Archives « médicales de Toulouse, mars-avril 1909) n'en pourrait « obtenir que des résultats d'ordre négatif et en raison « de la précision qui lui est nécessaire devra s'en tenir aux « méthodes rigoureuses dont elle dispose actuellement. »

R. Cestan écrit qu'on ne peut appliquer le procédé de Weber, c'est-à-dire l'éther acétique, avec le réactif à la phénolphtaline car, dit-il, l'acide acétique donne par lui-même une réaction positive.

C'est aussi notre opinion quand on opère sur des essais autres que l'urine. Nous avons également constaté que l'alcool donnait aussi avec le réactif de Meyer une réaction positive. Cependant l'alcool acétique (qui agit également sur le Meyer) *mélangé avec une urine ne contenant ni pus ni sang* ne donne alors aucune réaction colorée avec le réactif à la phénolphtaline.

Nous avons cherché si le mélange d'urine et d'eau dis-

tillée donnerait une réaction positive. Nous avons opéré une série de contrôles ainsi résumés.

*a*) 3cc du mélange d'une partie d'urine (densité = 1020 ; NaCl : 14 gr. 50, urée 20 gram. 75 par litre) et d'une partie d'eau distillée + 3cc d'alcool acétique + 1cc de réactif + III gouttes d'eau oxygénée. Réaction nettement négative.

*b*) 3cc du mélange d'une partie d'urine et de quatre parties d'eau distillée + 3cc d'alcool acétique + 1cc de réactif + III gouttes d'eau oxygénée. *Très légère* coloration *violacée à partir de la cinquième minute* et dont l'intensité n'avait presque pas augmenté après dix minutes.

*c*) 3cc du mélange d'une partie d'urine et de neuf parties d'eau distillée + 3cc alcool acétique + 1cc de réactif + III gouttes d'eau oxygénée. Légère coloration *violacée* à partir de trois minutes.

Nous faisons remarquer que dans ces essais la coloration était violacée et non rouge carmin comme dans les urines hématuriques.

Etant donné que ces légères teintes violacées n'apparaissaient qu'au bout d'un temps relativement assez long nous pouvons dire que l'urine (même diluée) contient des éléments empêchant la réaction de se faire.

Nous nous sommes demandé quels étaient les corps qui pouvaient empêcher la réaction de se produire. Nos études ont porté sur l'urée, l'acide urique, le chlorure de sodium les phosphates, la créatinine, l'acide hippurique. Aucun de ces composés nous a donné une réaction négative avec l'alcool acétique. Nous ne pouvons que constater le fait sans pouvoir nous l'expliquer.

L.-C. Maillard avait remarqué que les substances urinaires précipitables par les sels de plomb, et notamment les matières colorantes jaunes orangés, brunes entravent les

réactions de l'indoxyle. Peut-être s'agit-il ici aussi d'une manifestation de propriétés de ces mêmes substances.

« Quant à préciser quelles sont ces substances et leur mode d'action je ne me hasarderai pas à le faire. Je crois même prématuré de le tenter parce qu'on se heurterait à une question préalable jamais résolue, la nature et l'individualité même des divers « urochromes », « urobilines », etc. » (Maillard.)

### 2° Sensibilité de notre technique.

Le réactif à la phénophtaline avec la modification que nous avons apporté dans son emploi offre un grand avantage sur les autres procédés anciens à la teinture de gaïac et à la benzidine.

Nous pensons que la très grande sensibilité de notre procédé est due à l'apport de l'alcool qui favoriserait l'hémolyse et l'oxydation. Quant à l'acide acétique son action serait d'*amorcer* l'oxydation et de faciliter l'apparition de la réaction colorée (?).

Nous avons cherché à déterminer le titre de cette sensibilité.

Nous donnerons quelques chiffres qu'il ne faut pas regarder comme absolus car il est très difficile d'établir une limite avec ce réactif dans la recherche du sang dans l'urine où comme nous l'avons dit la sensibilité peut être augmentée ou diminuée suivant la densité de l'urine et sa richesse en certaines substances (matières colorantes?)

Nous avons fait plusieurs dilutions de notre sang avec notre propre urine de densité 1020 et contenant 14 gr. 50 de chlorures et 20 gr. 75 d'urée par litre.

Alors qu'avec le procédé ordinaire nous n'avons pu

obtenir de réaction positive avec une *dilution au cent millièmes*, avec notre modification nous avons eu une coloration qui s'est montrée *au bout de 4 secondes* et qui était d'un rouge intense après 21 secondes. Vingt heures après, l'intensité de la coloration était aussi forte.

Avec une dilution *au deux cents millièmes* nous avons eu la réaction *au bout de 18 secondes* et elle a atteint son maximum d'intensité à 58 secondes. Après vingt heures, la coloration avait un peu pâlie mais était encore très manifeste.

Avec une dilution *au cinq cents millièmes* nous obtenions une coloration à partir de *38 secondes* et elle devenait très intense au bout de une minute 35 secondes. La coloration est restée très tenace pendant dix heures.

Avec une dilution *au millionième* : début de la réaction, *1 minute 30 secondes* ; maximum, 2 minutes 33 secondes. La coloration a persisté pendant près de cinq heures.

Avec une dilution *au deux millionièmes :* début, *3 minutes 50 secondes* et maximum, 6 minutes 10 secondes. La réaction fut encore très caractéristique, quoique un peu longue à se produire.

Avec une dilution *au cinq millionièmes :* nous obtenions au bout de *5 minutes* une très légère coloration *rosée* qui ne s'accentuait pas à la longue. Nous avons regardé cette dernière expérience comme non concluante à cause de la lente apparition de la coloration et de son peu d'intensité.

De ceci il ressort qu'on peut déceler nettement des traces de sang dans l'urine diluée au *millionième* (quelquefois dans des cas rares au *deux millionièmes*), alors qu'avec le procédé ordinaire on n'arrivait à le constater que dans des solutions beaucoup plus concentrées.

Pour augmenter la sensibilité qui serait diminuée avec des urines chargées à précipité abondant et un peu coloré nous opérons ainsi :

On verse dans un tube à essai 3 centimètres cubes d'urine puis 3 centimètres cubes d'alcool acétique et 1 centimètre cube de réactif ; après agitation, on filtre le tout et on recueille 4 centimètres cubes auxquels on ajoute II goutes oxygénées à 12 volumes.

En procédant ainsi on obtient une réaction plus nette qu'elle n'aurait été sans filtration.

Ainsi que l'avaient constaté Delearde et Benoît il n'existerait dans l'urine aucun corps autre que le sang pouvant provoquer cette réaction.

L'albumine, les pigments biliaires, l'urobiline, le glucose, l'acide urique, les phosphates, l'indican, l'acétone n'ont pas d'action. Il en est de même des médicaments susceptibles d'être retrouvés dans les urines comme l'antipyrine, les iodures, les bromures, l'acide salycilique, l'acide phénique.

*Le pus urinaire a-t-il une action?*

Delearde et Benoît, ainsi que Puy-le-Blanc, indiquent qu'il est sans action avec le réactif à la phénolphtaline. Nous ne serons pas aussi catégoriques qu'eux. Pour Pozzi-Escot et Willenz le pus aurait une action.

Nous savons bien que presque toujours le pus urinaire s'accompagne de quelques rares globules sanguins qui à eux seuls seraient capables de donner une réaction franchement positive.

Nous pensons que les globules blancs contiennent aussi un ferment oxydant capable d'influencer la réaction, mais que cette action ne se manifeste pas toujours.

Avec Telmon, nous avons, en effet, constaté maintes fois que des urines franchement purulentes, ayant une réaction nettement acide, dans la pyélite surtout et dans quelques cas de cystite acide, ne donnent qu'une réaction positive

douteuse, tant elle est faible, réaction pouvant même être imputée aux quelques rares globules sanguins qui accompagnent le pus.

Ces mêmes urines, abandonnées à leur libre décomposition, donnent chaque jour une réaction plus nettement positive.

Il est donc permis de dire que le pus *peut* donner la réaction. Pour qu'elle se produise il faut que le globule blanc soit détruit pour pouvoir mettre en liberté son ferment. On peut aussi penser à la production possible de péroxydases par les bactéries du pus.

De là la nécessité d'opérer la recherche du sang dans les urines bien conservées et récentes. Le cyanure de mercure qu'on ajoute habituellement pour conserver les urines ne gêne pas la réaction.

Dans les cas de doute, il est facile de tourner la difficulté. Il suffit de maintenir l'urine quelques instants à l'ébullition et de laisser refroidir ensuite. La péroxydase du pus ou des microbes est détruite. La chaleur n'altérant nullement l'action du pigment sanguin, il est facile de faire ainsi la part du pus et celle du sang.

# TROISIÈME PARTIE

## INTÈRET CLINIQUE

Le procédé de recherche du sang dans les urines par la phénolphtaline trouve de nombreuses applications pratiques dans les cas d'hématuries ou d'hémoglobinuries légères qui ne pourraient être dévoilées par le simple aspect des urines dont la couleur est souvent à peu près normale.

De petites hématuries sont fréquentes dans les néphrites aigues passagères consécutives à une infection ou une intoxication.

Dans les néphrites aigues prolongées les hématuries sont plus abondantes et elles se manifestent surtout dans la néphrite a frigore.

Cependant au cours de la *scarlatine* il est fréquent, d'après Triboulet et Périneau, de trouver des traces de sang précécédant souvent l'apparition de l'albumine qui est si peu accentuée qu'il est difficile de la déceler par les réactions ordinaires.

Le réactif de Meyer permet alors de déceler des néphrites qui cliniquement auraient passé inaperçues et offre l'intérêt pratique d'instituer de suite le traitement et de régler l'alimentation.

MM. Paisseau et Léon Tixier dans leur communication à

la séance du 19 mars 1910, à la Société de Biologie, trouvent encore une application de la réaction à la phénolphtaline dans la *distinction possible entre les néphrites congestives et dégénératives* de Castaigne où seules les premières donneraient, d'après ces deux auteurs, une réaction positive.

Pour Tuffier aussi il n'y a peut-être pas une seule forme d'hématuries sans laquelle la congestion soit en jeu.

Labbé avait déjà signalé le rôle que la congestion pourrait jouer dans le mécanisme de la production de l'albuminurie. La phénolphtaline permettrait alors de distinguer l'albuminurie due à la congestion.

Chez les vieux prostatiques la décompression vésicale amène quelquefois des hématuries qui peuvent être légères avec des urines nettement troubles qu'une méthode sensible pourra préciser.

Toutes les fois que l'on fait la recherche de l'albumine dans les urines il est nécessaire, si elle est en petite quantité, d'effectuer en outre la recherche du sang qui pourrait donner lieu à de fausses interprétations sur l'existence même de l'albumine ou de son dosage. Dans ces cas l'examen microscopique ne saurait suffire car il est, nous l'avons déjà signalé, des urines qui pouvaient être osmo nocives et toxiques directement pour les globules rouges. L'hémoglobine transudée peut seule dans ces cas être constatée.

Il est en clinique un signe dont l'importance peut être primordiale dans le diagnostic de certaines affections : nous voulons parler de l'*hématurie provoquée par la marche* ou un exercice quelconque chez des malades atteints de *lithiase urinaire*, de *gravelle oxalique*, de *nephroptose*.

La lithiase présente souvent une symptomatologie assez fruste : un peu de sable antérieurement dans les urines, quelques douleurs lombaires vagues qui peuvent être tout

aussi bien de cause intestinale ou d'origine hépatique que de nature néphrétique.

A ces signes vient s'ajouter le symptôme capital de l'hématurie provoquée.

La marche, la course en voiture ou à cheval, la trépidation de la voiture, du chemin de fer, de l'automobile suffisent quelquefois à déterminer des hémorragies très minimes qui ne peuvent être reconnues à l'inspection seule des urines.

Il suffit de mettre le malade au repos pendant 24 heures et de s'assurer que les urines ne donnent pas la réaction à la phénolphtaline, le lendemain on soumettra le malade à une marche un peu fatigante ou à un exercice et on recueillera également les urines des 24 heures. Si on trouve des traces de sang dans l'urine dans le deuxième essai, ce symptôme sera grandement en faveur de l'origine néphritique de la colique.

Il est des cas rares cependant où au processus lithogène s'est ajoutée l'infection urinaire (lithiase aseptique) le calcul enrobé par des glaires qui l'empêchent de traumatiser le rein ne provoque pas d'hématurie même après des exercices physiques.

Dans les cas de gravelles oxaliques on peut aussi constater de petites hématuries légères dues au passage des cristaux d'acide oxalique à travers les voies rénales.

L'hématurie de la tuberculose rénale survient alors que déjà depuis longtemps on a noté de la polyurie trouble et une tumeur rénale. C'est la forme hématurique de la tuberculose. Mais au début de l'affection, elle est fréquente et sa présence ne peut-être constaté que par des procédés sensibles car elle est peu abondante. Sa constatation offre un intérêt clinique important. Elle survient généralement chez des individus à santé apparente bonne avec des urines très

claires au début et qui deviennent ensuite troubles à réaction faiblement acide et même alcaline. Cette hématurie est due uniquement à la congestion rénale et à la néphrite qui accompagnent la lésion tuberculeuse.

Dans le cancer du rein, l'hématurie a une grande valeur de diagnostic : elle est spontanée, abondante, plus forte que dans la tuberculose et se manifeste sans cause appréciable; mais outre la crise hématurique où le sang intimément mélangé à l'urine est constaté à l'inspection seule, on peut déceler des hématuries microscopiques dont la constatation a un fort intérêt sémiologique. Là encore notre méthode à la phénolphtaline trouve une application importante.

# CONCLUSIONS

La technique que nous indiquons présente sur les anciens procédés les avantages suivants :

1° D'augmenter la limite de la sensibilité ;

2° De permettre d'affirmer que la recherche du sang dans l'urine par notre procédé est aussi sensible que l'emploi du microscope ;

3° De présenter en outre sur le microscope l'avantage de pouvoir déceler des traces de sang dont les globules auraient été laqués par une urine hypotonique ;

4° D'être une méthode de choix pour la clinique à cause de sa rapidité et de sa sensibilité.

N. B. — Nous rappelons que notre modification ne doit s'appliquer qu'à l'urine seule.

# INDEX BIBLIOGRAPHIQUE


ALBARRAN. — Hématuries des néphrites. *Presse médicale*, 15 oct. 1904.

ALBARRAN, HENZ-BOYER. — Procédé simple pour la recherche du sang dans les urines. *Presse médicale*, 19 mai 1909.

BÉHAL. — Traité de chimie organique, 2e édition. Propriétés des phtaléines.

BROUARDEL, GILBERT ET TOINOT. — *Nouveau traité de médecine*. T. XXI, Maladies des reins.

R. CESTAN. — La recherche du sang par les procédés de la benzidine et de la phénolphtaléine. Archives médicales de Toulouse, 15 mars, 1 avril 1909.

DASKALOFF. — Sur les nouveaux procédés du diagnostic des taches de sang. Thèse de médecine, Montpellier 1909.

DEBOVE, ACHARD ET CASTAIGNE. — Maladies des reins 1906.

DELEARDE ET BENOIT. — Sur un nouveau procédé chimique de la recherche du sang. (Comptes rendus des séances de la Société de biologie, 12, 19 juin 1908. — *Echo médical du Nord*, T. XII, p. 236, 5 juillet 1908).

FABRINKAUTOFF. — L'hématurie histologique dans les néphrites épithéliales. Thèse de Genève 1907.

FALLOISE A. — Les Gastrorragies frustes. *Presse médicale*, 16 juin 1906.

LABAT. — Sur la recherche du sang en clinique et en médecine légale. *Gazette hebd. des Sciences médicales de Bordeaux*, 29 nov. 1908.

LÉVY F. — Les hémorragies occultes du tube digestif. *Gazette des hôpitaux*, 24 octobre 1908.

MAILLARD L. C. — L'indoxyle urinaire. Paris, Schleicher 1903.

PAISSEAU ET LÉON TIXIER. — A propos de la réaction de Meyer dans les néphrites. (Comptes rendus des séances de la Société de biologie, 19 mars 1910.)

Pozzi-Escot. — Emploi de la phénolphtaline comme réactif du sang. *Bull. soc. chim. Belgique.* T. XXII, p. 415-416.

Puy-le-Blanc. — Procédé pratique pour la recherche du sang dans les urines. Thèse de Paris 1909.

Sabrazès et Fauquet. — Action de l'urine sur les globules rouges. (Comptes rendus des séances de la Société de biolog., 9 mars 1901).

Sacareau. — Hémorragies occultes du tube digestif. Thèse de Toulouse, mai 1907.

Sée Pierre. — Contribution à l'étude des applications thérapeutiques des oxydases et des métaux ferments. Thèse de Paris 1905.

Telmon et Sardou. — Etude de la réaction à la phénolphtaline pour la recherche du sang dans l'urine. Séance de la Société des sciences médicales du 28 janvier 1910 (*Montpellier-Médical*).

Triboulet et Périneau. — Examen systématique des urines à l'aide de la phénolphtaline chez les scarlatineux. Soc. méd. des Hop. de Paris, 17 décembre 1909.

*Union pharmaceutique*, 15 octobre 1909. — Recherche du sang dans les urines, dans les matières fécales et dans divers liquides de l'organisme.

Ville et Moitessier. — Action du sang sur l'eau oxygénée (*Bull. soc. chim. de Paris.* T. XXVII, p. 1003.— Sur la séparation des principes décomposant l'eau oxygénée contenus dans les hématies. *Bull. soc, chim. de Paris* 1903. T. XXIX, page 978.

Willenz. — Sur la recherche du sang par les procédés chimiques. *Bul. soc. Pharmacie de Bordeaux*, juillet 1906.

# SERMENT

*En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !*

VU ET APPROUVÉ :

Montpellier, le 11 avril 1910.

*Le Doyen,*
MAIRET.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER,

Montpellier, le 11 avril 1910.

*Le Recteur,*
ANT. BENOIST.

Montpellier. — Imprimerie de la Manufacture de la Charité.